[農化 第 35 卷, 第 7 号, p. 663~667, 1961]

アミノ酸とアルデヒドの化学反応について (第 1 報)*

赤堀反応によるクロラムフェニコールの合成^(1,2)

江 本 栄, 安 藤 誠 (理化学研究所)

昭和 35 年 12 月 14 日 受理

アルデヒド, ケトン類による α -アミノ酸の分解反応は Strecker⁽³⁾ が α -アラニンにアロキサンを作用せしめて炭酸ガスとアセトアルデヒドが発生することを発見して以来, 多くの研究が行なわれた. 赤堀等⁽⁴⁾は N-メチルアラニンまたはアラニンとベンツアルデヒドとをピリジン中で加熱し, 脱炭酸を伴う縮合反応によって *d, l*- ψ -エフェドリンまたは *nor*-エフェドリンが生成することを発見した. 高木⁽⁵⁾らはアラニンとベンツアルデヒドとの反応をさらに詳細に研究し, *nor*-エフェドリンの他にエチルアミン, ベンジルアミン, α, β -ジフェニルエタノールアミンが副成することを明かにした.

この反応を応用してクロラムフェニコールを合成するにはセリンと *p*-ニトロベンツアルデヒドを反応させればよいはずであるが, セリン微粉末と *p*-ニトロベンツアルデヒドをピリジン中で加熱しても脱炭酸はきわめてゆるやかであり, 数時間後に至っても多量の未反応セリンが残存しピリジン中には黒色樹脂様物質が生成するのみであった.

セリンは pH 9 で他の中性アミノ酸に較べすみやかにラセミ化することが知られ, これは β 位炭素原子に存在する水酸基の電気陰性効果によって α 位の水素原子が移動しやすくなっているためであろう. β 位水酸基が α 位炭素原子に影響を及ぼしていることは, セリンの解離定数が 2.21 ($\text{pK}'_{\text{CO}_2\text{H}}$), 9.15 ($\text{pK}'_{\text{NH}_3^+}$) であってアラニンのそれ (2.39; 9.69) と比較しても明かである. このように β 位水酸基の影響で α 位炭素陰イオンが生成しやすい傾向を持つにかかわらずセリンがアルデヒドで脱炭酸しないことは, 特に D, L-セリンにおいて β 位 OH 基が分子間水素結合によって強く固定されていることが赤外吸収スペクトル⁽⁶⁾から知られているので, このことは同時に D, L-セリンの溶解度がきわめて低いことの説明ともなり反応性低下の原因であろう.

第 1 図

* Chemical Reactions of Amino Acids with Aldehydes. Part I. Synthesis of Chloramphenicol by Akabori's Reaction.

By Sakae EMOTO and Makoto ANDO (The Institute of Physical and Chemical Research)

そこで、遊離水酸基をメチル化した O-メチルセリン (I) は水素結合の妨害を無くし一方ではこの酸素原子による α 位水素原子のイオン化促進効果が期待されるのであるが、事実ピリジン中で *p*-ニトロベンツアルデヒドとよくかきまぜながら加熱する時はきわめて速く脱炭酸反応が行なわれ数分以内に終了する。

この反応を利用したクロラムフェニコール (IV) 合成経路を第 1 図に示す。

(I) の微粉末と *p*-ニトロベンツアルデヒドをピリジン中で反応させる場合、室温では数日間かきまぜても見掛け上の変化は見られないが、加温する時は 80~85° 附近で著しい炭酸ガスの発生が認められる。しかし 100° 以下で脱炭酸反応を終了させるにはピリジン沸騰状態のときに比べ数倍の時間を要し樹脂状物質の増加をきたし目的塩基 (II) の収量は低下する。むしろ沸騰状態のピリジン中にかきまぜながらアミノ酸 (I) と *p*-ニトロベンツアルデヒドの微粉末を投入し、できる限り早く脱炭酸反応を終了させる方が収量がよい。

アミノ酸に対するアルデヒドの必要量は理論的には 2 倍モルであるが 3 倍モル以上が反応もやや早く、収量も改善される。しかし、正確な反応論的取扱は脱炭酸反応が余りにも早く、温度による影響も大きく、生成物が多様であるので困難であった。ピリジンはアミノ酸とアルデヒドの反応で生成する水で稀釈されることによって溶媒効果が低下する可能性を考えると多量の方がよいようであり、実際アミノ酸の 50 倍量程度使用するのがよかった。

赤堀反応と同様にアミノ酸の脱炭酸反応として知られる Dakin-West⁽⁷⁾ の反応では、その溶媒としてピリジンよりも 4-ピコリン、トリエチルアミン、N-メチルピペリジン等の方が脱炭酸速度が早い⁽⁸⁾ ことが知られている。しかし、この反応においてはトリエチルアミン中で (I) と *p*-ニトロベンツアルデヒドと加熱すると、86° 以下で脱炭酸反応が始まるけれどもトリエチルアミンの沸点が低いため、反応終了に至る時間は長くしかも生成物はほとんど黒色のピッチ状物質となり、またピリジン中に少量のトリエチルアミンあるいはピペリジン、N-メチルピペリジンを添加した場合も生成物は大部分がピッチ状物質となる。ジメチルホルムアミドを使用する時も正常物質を分離することはできなかった。

さて (I) と *p*-ニトロベンツアルデヒドをピリジン中で加熱し脱炭酸反応を行ったピリジン溶液中には黒色ピッチ状物質も溶存しているので、生成物を取り出すためには過剰のピリジンを蒸留回収したのち過剰のアルデヒドおよび予想される数種のアミンを分別する必要がある、このためには溶剤による分別結晶法よりは次の方法が簡便であった。すなわちピリジン留去物に稀塩酸を加え水蒸気蒸留すると *p*-ニトロベンツアルデヒドは留出し、残留液中には黒色ピッチ状物質が沈むのでこし分け、冷却すると α, β -bis(*p*-nitrophenyl)-ethanolamine (X) 塩酸塩が析出する。これをこし分けた液を氷冷しよくかきまぜながら 10% 水酸化ナトリウム水溶液で中和すると pH 7~8 までに α, β -bis(*p*-nitrophenyl)-ethanolamine (X) が沈殿し、pH 8 附近より目的物 (II) が析出する。この収量が少なくなかなか結晶状に析出しないときは強アルカリ性 (pH 13) とし、酢酸エチルで数回抽出すると目的物 (II) 及び *p*-nitrobenzylamine (IX) は酢酸エチル層に移りアルカリ水溶液中には未反応アミノ酸及び微量の β -methoxyethylamine (VIII) が検出されるのみとなる。酢酸エチル層を濃縮すると結晶を生じ少量の酢酸エチルで洗うとほとんど純粋の目的物 (II) を得ることができた。

この目的物 (II) は比較的安定で *p*-ニトロベンツアルデヒドとピリジン中で数時間煮沸してもほとんど変化なく、またアルデヒドの存在で稀塩酸と煮沸しても他のアミンの生成はペーパークロマトグラフィーで検出できなかった。一方、 α, β -bis(*p*-nitrophenyl)-ethanolamine (X) の遊離塩基は不安定な物質でアルコール中で再結晶させるため加温溶解させると分解を伴って精製の目的を達することができず、塩酸酸性水溶液から再沈殿法によって成功した。またこの遊離塩基を *p*-ニトロベンツアルデヒドとともにピリジン中で加熱するとすみやかに着色しピッチ状物質となる。このことからさきに赤堀反応液中から分離された黒色ピッチ状物質は、このようにして二次的に生成したものと考えられ、またピッチ状物質が多量に生成したときはアルデヒドの回収量も少いから、脱炭酸反応はできる限り短時間の方が良い。

ここに得られた目的物 D, L-1-*p*-nitrophenyl-2-amino-3-methoxy-1-propanol (II) の立体構造を知るため、臭化水素水 (48%) で処理すると D, L-1-*p*-nitrophenyl-2-amino-1,3-propanediol (VII) となり、この遊離塩基 (m. p. 140~141°), 塩酸塩 (m. p. 180~181°) 及び N-アセチル化物 (VI) (m. p. 169°) は、別に *p*-nitroacetophenone (V) より合成した D, L-*threo*-1-*p*-nitrophenyl-2-amino-1,3-propanediol (VII)⁽⁹⁾ のそれぞれに対応する誘導体と混融しても融点降下を示さないから、赤堀反応で得られた塩基 (II) は臭化水素水による脱メ

チル処理で転位反応は起らないと考えられるので *threo* 系であることが知られた. *erythro* 系塩基は検出, 分離されなかった.

この D, L-*threo* 系塩基 (II) は酒石酸を用いて不斉分割し水またはメタノールから精製すると D-*threo*-1-*p*-nitrophenyl-2-amino-3-methoxy-1-propanol D-酒石酸塩 (酸性塩) (m. p. 190°, $[\alpha]_{D}^{20} +6.22^\circ$, $c=2.60$ H₂O) が得られ, これを中和すると光学活性塩基すなわち D-*threo*-1-*p*-nitrophenyl-2-amino-3-methoxy-1-propanol (m. p. 145°, $[\alpha]_{D}^{20} -10.0^\circ$, $c=1.0$ MeOH) が得られた.

この塩基 (II) をクロラムフェニコール (IV) に誘導するには 3 位のメチルエーテル結合を切断する必要がある, この方法として先にのべたように臭化水素水または塩酸で加水分解する方法もあるが, エーテルの分解には無水塩化亜鉛を触媒としてアセチルクロリドによって一方を塩化アルキルとし, 他方をアセチル化合物として取出す法⁽¹⁰⁾があり, この方法を塩基 (II) の脱メチル反応に適用すると反応平衡から考えて沸点の低い塩化メチルが離脱し, 系外に取出され目的物がアセチル化されるはずである. アミノ基をジクロルアセチル化 (III) して保護した後アセチルクロリドと反応させると N-ジクロルアセチルアミノ-1,3-ジアセチル化合物を生ずる. この化合物を取出すことなく過剰のアンモニアで処理すると N-アシル基が保存されたまま O-アシル基が切断され, 難溶性のクロラムフェニコール (V) が取出された. この反応において光学活性は変化を受けない.

実 験 の 部 (融点是非補正值)

1. O-Methylserine⁽¹¹⁾ (I) と *p*-nitrobenzaldehyde の脱炭酸反応

a 法 O-Methylserine (I) 粉末 7.2 g, *p*-nitrobenzaldehyde 24 g, ピリジン 130 ml をかきまぜつつ油浴上で還流煮沸. 約 10 分間で炭酸ガスの発生は認められなくなる. 黒褐色反応液からピリジンを減圧下に留去し, 10% 塩酸 50 ml を加え水蒸気蒸留し留出液より *p*-nitrobenzaldehyde 5.5 g を回収. 薄いだいたい色の残留液から黒色ピッチ状物質 (13 g) を除き冷却すると白色結晶 A (0.6 g) が沈殿する. 濾液を減圧下に濃縮しアルコールを加え沈殿した結晶 A をこし分け濃縮すると別の結晶 B が沈殿する. 濾液からアルコールで分別結晶し結晶 B 及び結晶 C を得た.

結晶 A : 水より再結晶, 収量 3.6 g (13.9%), m. p. 224~225° dec., 元素分析の結果 α, β -bis (*p*-nitrophenyl)-ethanolamine (X) 塩酸塩 (C₁₄H₁₄O₅N₃Cl, M. W. 339.74) に合致した.

分析値 : C 49.45, H 4.18, N 12.11% 計算値 : C 49.49, H 4.15, N 12.37%

結晶 B : アルコールより再結晶, 収量 1.63 g (10.3%), m. p. 205~207° dec., 元素分析の結果 1-*p*-nitrophenyl-2-amino-3-methoxy-1-propanol (II) 塩酸塩 (C₁₀H₁₅O₄N₂Cl, M. W. 262.70) に合致した.

分析値 : C 45.50, H 5.37, N 10.74% 計算値 : C 45.71, H 5.75, N 10.66%

結晶 C : メタノールより再結晶, 収量 0.1 g (0.9%), m. p. 265° dec., 元素分析の結果 *p*-nitrobenzylamine (IX) 塩酸塩 (C₇H₉O₂N₂Cl, M. W. 188.62) に合致した.

分析値 : C 44.57, H 4.90, N 14.67% 計算値 : C 44.57, H 4.81, N 14.85%

b 法 ピリジン 500 ml. *p*-nitrobenzaldehyde 45 g をかきまぜつつ加温し約 104° になった時, O-methylserine (I) 粉末 10.0 g を一度に加えると直ちに CO₂ が発生し約 4 分で終了する. 減圧下に濃縮し, 水 200 ml, conc. HCl 15 ml を加え水蒸気蒸留, 留出液 9 l. 回収した *p*-nitrobenzaldehyde 18 g, 黒色ピッチ状物質 12.3 g を分離し活性炭で脱色し減圧下に約 100 ml になる迄濃縮された水蒸気蒸留残液から α, β -bis(*p*-nitrophenyl)-ethanolamine (X) 塩酸塩 4.7 g (16.5%) を分離した. 濾液を冷却し, かきまぜつつ 10% NaOH で中和すると pH 6 迄に 0.8 g, pH 8.4 迄に 0.9 g の沈殿を得たが, これらの主成分は化合物 (X) の遊離塩基であった. α, β -bis(*p*-nitrophenyl)-ethanolamine (X) の合計収率 23.2%. 遊離塩基 (X) をアルコールより再結晶を試みたが容易に融点の一定した化合物とならないので, 塩酸塩として精製しアルカリで中和し再沈殿法により m. p. 183° dec. の結晶を得, 元素分析の結果 α, β -bis (*p*-nitrophenyl)-ethanolamine (X) (C₁₄H₁₈O₅N₃, M. W. 303.27) と一致した.

分析値 : C 55.81, H 4.20, N 14.10% 計算値 : C 55.44, H 4.32, N 13.86%

エタノールアミン (X) を分離した濾液に 10% NaOH を加え pH 13 とし酢酸エチルで抽出し酢酸エチル層を水洗脱水後濃縮すると結晶が析出する. ペーパークロマトグラフィーによると 1-*p*-nitrophenyl-2-amino-3-methoxy-1-propanol (II) と *p*-nitrobenzylamine (IX) の混合物である. エタノールより脱色再結晶すると目的

物 (II) の白色結晶 2.7 g (14.2%), m. p. 136~137° を得た. 元素分析の結果 1-*p*-nitrophenyl-2-amino-3-methoxy-1-propanol (II) ($C_{10}H_{14}O_4N_2$, M. W. 226.23) に合致した.

分析値: C 53.26, H 6.17, N 12.18%

計算値: C 53.09, H 6.24, N 12.38%

b' 法: ビリジン 500 ml, *p*-nitrobenzaldehyde 50 g, O-methyl serine (I) 粉末 10.0 g をほぼ同一法で繰返す.

回収した *p*-nitrobenzaldehyde 23.3 g, 黒色ピッチ状物質 12.0 g, エタノールアミン (X) 塩酸塩 2.7 g (9.5%) を分離した後, アルカリによる分別沈澱法を行う. pH 7.6 までに沈澱したエタノールアミン (X) 遊離塩基の粗結晶 16.2 g (63.7%). 目的物 (II) 遊離塩基は pH 7.6~9.5 の区分で得られ, 収量 2.4 g (m. p. 129~131°), さらに濾液を強アルカリとし酢酸エチル抽出区分より 0.7 g が分離された. 粗結晶合計 3.1 g (17.4%).

2. **D, L-threo-1-*p*-Nitrophenyl-2-amino-1, 3-propanediol (VII) 及びその誘導体** O-Methyl serine (I) より得た 1-*p*-nitrophenyl-2-amino-3-methoxy-1-propanol (II) 0.4 g と HBr aq. (48%) 8 ml を油浴上で 2 時間還流煮沸後, 減圧濃縮し水で稀釈し 10% NaOH aq. で pH 6 とし無定形沈澱物をこし別け, 強アルカリとし酢酸エチルで抽出し, 酢酸エチル層を 5% HCl aq. で抽出し減圧濃縮, エタノールを加え生じた結晶を水より再結晶す. m. p. 180~181° の結晶 0.2 g. *p*-nitroacetophenone より合成した D, L-threo-1-*p*-nitrophenyl-2-amino-1, 3-propanediol (VII) 塩酸塩⁽⁹⁾*との混融点一致.

上記 m. p. 180° の結晶 (VII) 塩酸塩を少量の水にとかし 10% NaOH で中和すると油状物質が析出し間もなく結晶化する. イソプロパノールより再結晶する. m. p. 140~141° の結晶 0.1 g. この propanediol 化合物 (VII) は別の合成品より得た相当物 (VII) と混融点低下なし.

Propanediol 化合物 (VII) を無水酢酸 5 ml と処理後エタノールにとかしアンモニアで飽和し一夜放置すると m. p. 169° の結晶 50 mg を得た. 別の合成法⁽⁹⁾による D, L-threo-1-*p*-nitrophenyl-2-acetyl-amino-1, 3-propanediol との混融点低下なし. 別の合成法⁽⁹⁾による D, L-erythro-1-*p*-nitrophenyl-2-acetyl-amino-1, 3-propanediol (m. p. 192~193°) と混融すると 150° 附近より軟化し明確な融点を示さない.

3. **D-threo-1-*p*-Nitrophenyl-2-amino-3-methoxy-1-propanol (II')** D, L-threo-1-*p*-Nitrophenyl-2-amino-3-methoxy-1-propanol (II) 2.3 g, D-酒石酸 3.7 g を 12 ml の水に加温し溶解し少量の不溶物をこし分け放置し結晶 1.3 g (69%) (m. p. 184°) を得た. これを水より再結晶 m. p. 189~190°, $[\alpha]_{5461}^{20} +6.22$ ($c=2.60$, H_2O).

元素分析の結果は酒石酸酸性塩 ($C_{14}H_{20}O_{10}N_2$, M. W. 376.32) に一致.

分析値: C 44.62, H 5.44, N 7.76%

計算値: C 44.68, H 5.36, N 7.44%

D, L-塩基 (II) 0.4 g と D-酒石酸 0.3 g を 2.5 ml の水にとかし, 85° から徐々に室温に冷却すると壱状結晶 0.28 g, m. p. 210~211° dec. を得た. $[\alpha]_{5461}^{20} +10.9^\circ$ ($c=3.064$, H_2O), 分析値は塩基 (II) の D-酒石酸中性塩 ($C_{24}H_{34}O_{14}N_4$, M. W. 602.54) と一致.

分析値: C 47.78, H 5.48, N 9.35

計算値: C 47.84, H 5.69%, N 9.30

D-酒石酸酸性塩 (m. p. 189~190°) 0.5 g を 5 ml の水にとかし conc. NH_4OH 0.3 ml を加えると結晶析出. 15 分間水冷後結晶をこし別け, 水洗すると m. p. 145° の針状結晶 0.25 g を得た. $[\alpha]_{5461}^{20} -10.0^\circ$ ($c=1.00$ メタノール).

一方 D-酒石酸中性塩 (m. p. 210~211° dec.) は同一処理によって m. p. 137~138° の結晶を得たが旋光性は認められなかった.

4. **D, L-threo-1-*p*-Nitrophenyl-2-dichloroacetyl-amino-3-methoxy-1-propanol (III) 及び D-threo-1-*p*-nitrophenyl-2-dichloroacetyl-amino-3-methoxy-1-propanol (III')** D, L-threo-1-*p*-Nitrophenyl-2-amino-3-methoxy-1-propanol (II) 1.5 g と methyl dichloroacetate 15 g を 2 時間煮沸した後減圧下に濃縮し, 石油エーテルを加えて結晶化す. 多過ぎると油状となる. 収量 1.7 g (76%, m. p. 99°). 70% メタノールより再結晶 m. p. 104°, 1.5 g (72%). D, L-threo-1-*p*-nitrophenyl-2-dichloroacetyl-amino-3-methoxy-1-propanol (III) ($C_{12}H_{14}O_5N_2Cl_2$, M. W. 337.16) と元素分析の結果一致.

分析値: C 43.02, H 3.97, N 8.39, Cl 21.32%

計算値: C 42.73, H 4.18, N 8.31, Cl 21.02%

* 理化学研究所池田博士より分与された.

なお, 塩基 (II) のジクロロ酢酸塩は m. p. 177~178° を示す。

D-threo-1-*p*-Nitrophenyl-2-amino-3-methoxy-1-propanol (II') 1.1 g を 20 ml のメタノールにとかし methyl dichloroacetate 1.1 g と無水炭酸カリ微量を添加し, 還流煮沸 5 時間後反応液をこし別け濃縮し D-threo-1-*p*-nitrophenyl-2-dichloroacetyl-amino-3-methoxy-1-propanol (III') 結晶 1.4 g (83%), m. p. 108°, $[\alpha]_{D}^{20} +3.50$ ($c=6.0$, EtOH). *B. coli* に対し効果的抗菌性は見られなかった。

5. D, L-クロラムフェニコール (IV) 及びクロラムフェニコール (IV') D, L-threo-1-*p*-Nitrophenyl-2-dichloroacetyl-amino-3-methoxy-1-propanol (III) 1.0 g, 無水塩化亜鉛 4.0 g, アセチルクロリド 10 g を 2 時間還流煮沸後減圧下に濃縮しシラップ状残留物を氷冷しつつ約 20% のアンモニアメタノール 50 ml を加えると無機物が沈殿する。一夜放置後沈殿をこし別け, メタノールで洗った後, 濾液及び洗液を合せ濃縮すると無機物が沈殿する。水を加えてとかし酢酸エチルで抽出し酢酸エチル層を濃縮し少量のメタノールを加え結晶化させる。結晶を水より再結晶すると m. p. 149~150° の結晶 0.6 g (62%) を得た。別の方法で合成した D, L-threo-クロラムフェニコールと混融して融点降下しない。

D-threo-1-*p*-Nitrophenyl-2-dichloroacetyl-amino-3-methoxy-1-propanol (III') 0.5 g より同様処理によってクロラムフェニコール約 0.3 g を得た。 $[\alpha]_{D}^{20} +184^{\circ}$ ($c=1.1$, エタノール), m. p. 150°。

終りに当り御指導頂いた藪田先生, 試料を分与された池田博博士, 元素分析を担当された理研微量分析室古橋久三郎, 武藤 潔, 本間春雄, 大石隆一, 河原和子氏等に感謝する。本研究費の一部は文部省試験研究費によった。

(1) 藪田貞治郎, 江本 栄: 日特 231095.	(7) H. D. Dakin, R. West: <i>J. Biol. Chem.</i> , 78, 91, 745, 757 (1928).
(2) 藪田貞治郎, 江本 栄, 安藤 誠: 特公昭 35—16431.	(8) S. Searles, G. J. Cvejanovich: <i>J. Am. Chem. Soc.</i> , 72, 3200 (1950).
(3) A. Strecker: <i>Ann.</i> , 123, 363 (1862).	(9) L. M. Long, H. D. Troutman: <i>ibid.</i> , 71, 2473 (1949).
(4) 赤堀四郎, 桃谷嘉橋: <i>Proc. Imp. Acad. Tokyo</i> , 17, 506 (1941); 日化, 64, 608 (1943).	(10) L. P. Kyrides: <i>ibid.</i> , 55, 1209 (1933).
(5) 高木鋭一: 薬学雑誌, 71, 648 (1951); 72, 812 (1952); 73, 1086 (1953).	(11) "Org. Syn", J. Wiley and Sons, Inc. New York, Coll. Vol. 3, 774 (1955).
(6) H. Brockmann, H. Musso: <i>Chem. Ber.</i> , 89, 241 (1956).	

[農化 第 37 卷, 第 6 号, p. 667~671, 1961]

アミノ酸とアルデヒドの化学反応について (第 2 報)*

アミノ酸の脱炭酸に及ぼす溶媒の影響

江 本 栄 (理化学研究所)

昭和 35 年 12 月 14 日 受理

前報において⁽¹⁾, いわゆる赤堀反応を応用し O-メチルセリンと *p*-ニトロベンツアルデヒドからクロラムフェニコールに導く合成方法について述べた。しかしこのようなアミノ酸とアルデヒドの脱炭酸縮合反応によって生成するアミンの収量は一般に低く, またこの反応においてアミン生成に及ぼす溶媒の影響等についての研究は少いのでこの点について研究し若干の知見を得た。

まず, アミノ酸の脱炭酸に及ぼす溶媒の影響について述べる前にその反応機構を説明する。

アミノ酸とアルデヒドの化学反応の第一歩がシッフ塩基型カルボン酸 (第 1 図 III) の生成であることはすでに多くの人々によって認められている。芳香族アルデヒドの反応はカルボニル基の炭素原子の陽性と酸素原子の陰

* Chemical Reactions of Amino Acids with Aldehydes. Part II. Decarboxylation of Amino Acid in Various Solvents.

By Sakae EMOTO (The Institute of Physical Chemical Research)